

Blockierung
der Hyaluronidasehemmung
des Resochins durch Ergotamin,
Pendiomid, Protamin und Avil

von

ELSBETH WILL

München

1961

Aus der Medizinischen Poliklinik der Universität München
(Direktor: Professor Dr. W. Seitz)

Blockierung der Hyaluronidasehemmung des Resochins
durch Ergotamin, Pendiomid, Protamin und Avil

Inaugural-Dissertation
Zur Erlangung der Doktorwürde in der gesamten Medizin
verfaßt und einer Hohen Medizinischen Fakultät der
Ludwig-Maximilians-Universität zu München

vorgelegt von
Elsbeth Will
aus
Eschwege /Hessen
1960



Gedruckt mit Genehmigung der Medizinischen
Fakultät der Universität München

Referent: Professor Dr. W. Seitz

Dekan: Professor Dr. Dr. H. Eyer

Tag der mündlichen Prüfung:

Inhaltsverzeichnis

Problematik	4
Eigene Versuche	6
Methodik	6
Versuchsreihen	7
Berechnung der prozentualen Hemmung	15
Statistische Auswertung	15
Diskussion	42
Zusammenfassung	44
Literaturverzeichnis	45

Problematik

M a t h i e s ¹ hat die hyaluronidasehemmende Wirkung antirheumatischer Substanzen im Rattenversuch in vitro bestätigt bzw. nachgewiesen. Es handelte sich bei diesen Stoffen um Pharmaka bzw. Wirkstoffe, die als Antirheumatica therapeutisch angewendet werden. In der hyaluronidasehemmenden Wirkung der Antirheumatika ist zweifellos ein wichtiger Teileffekt zu sehen, wenn sie auch nicht das therapeutische Prinzip schlechthin darstellt. In zusammenfassenden Übersichten hat M a t h i e s ^{2,3} auf die Bedeutung des Hyaluronidase-Hyaluronsäure-Systems im rheumatischen Geschehen hingewiesen. Die therapeutischen Effekte der Antirheumatika sind bei den einzelnen Stoffen sicher unterschiedlich gelagert. Die analgetische Wirkung mancher Antirheumatika spielt dabei eine entscheidende Rolle. Die analgetisch wirkenden Substanzen, soweit sie von M a t h i e s ¹ untersucht worden sind, besitzen auch einen hyaluronidasehemmenden Effekt, so daß ihre Wirkung mindestens eine zweifache ist. Weitere Wirkungskomponenten sind noch unbekannt bzw. werden vermutet. Eine antiphlogistische Wirkung spielt auch eine gewisse Rolle, läuft jedoch teilweise mit einer hyaluronidasehemmenden Wirkung parallel, wenn auch hier, wie die Arbeiten von D o m e n j o z ⁴ gezeigt haben, die Parallelität eine vollständige ist. Im Moor bzw. auch in Schwefelbädern finden sich antirheumatische Wirkstoffe, die nicht analgetisch, dagegen nach Untersuchungen von M a t h i e s ⁵⁻⁷, M a t h i e s u. v. W e r t h e r ⁸ und M a t h i e s u. G a r e i s s e n ⁹ hyaluronidasehemmend wirksam sind. Eine weitere, in letzter Zeit zur Behandlung des Rheumatismus empfohlene Substanz stellt das Chloroquin (Resochin) dar, die ebenfalls einen analgetischen Effekt vermissen läßt. F u m y ¹⁰ hat die hyaluronidasehemmende Wirkung dieses Stoffes bereits nachgewiesen. Die klinische Entdeckung der antirheumatischen Wirkung des Resochins war eine zufällige. P a g e ¹¹ stellte fest, daß Patienten, die an Malaria und gleichzeitig an Gelenkrheumatismus erkrankt waren und mit dem dem Chloroquin verwandten Quinacrin (Atebrin) behandelt wurden, eine Besserung ihrer rheumatischen Beschwerden angaben.

Später setzte er seine Versuche mit Chloroquin fort. Es liegen zahlreiche Veröffentlichungen über klinische Erfolge in der Behandlung von Krankheiten des rheumatischen Formenkreises und anderer Kollagenkrankheiten vor. Auch sind von Haydn¹², Kurnick¹³ und Busch¹⁴ mögliche Wirkungsweisen diskutiert worden. Die Bedeutung der Zwischenzellsubstanz beim Angriffspunkt des Chloroquins wird dabei mehrfach hervorgehoben. Es wird verschiedentlich die Auffassung vertreten, daß Chloroquin einen anders gelagerten Wirkungsmechanismus gegenüber den anderen Rheumatika aufweist.

Am Beispiel der Salicylate, des Phenylbutazons, des Chloraethylbenz-methoxazons und der Moorbäder hat Mathies^{1,15,16} die Wirkungsweise in vivo hyaluronidasehemmender Stoffe zumindest teilweise aufklären können. Es zeigte sich hierbei, daß die hyaluronidasehemmende Wirkung über eine Aktivierung des Nebennierenmarkes mit einer Ausschüttung von Nebennierenmark-Katecholaminen läuft.

Im einzelnen ergaben die Versuche, daß die Hemmung der Hyaluronidaseaktivität bei adrenaletomierten Tieren ausbleibt, bei hypophysektomierten Tieren dagegen erhalten ist. Da bei hypophysektomierten Tieren gleichzeitig der Ascorbinsäure-Depletionseffekt der Nebennieren, der als Ausdruck einer Stimulierung der Nebennierenrinde zu werten ist, ausbleibt, kann die nachweisbare Nebennierenaktivierung nicht für das Zustandekommen der Hyaluronidasehemmung verantwortlich gemacht werden. Es war demnach eine über das Nebennierenmark laufende Wirkung der hyaluronidasehemmenden Substanzen anzunehmen, die durch den Nachweis einer Katecholaminausschüttung aus den Nebennieren auf Grund von Bestimmungen des Katecholamingehaltes der Nebennieren bestätigt werden konnte. Die Hemmung der Hyaluronidaseaktivität wurde außerdem durch Ganglienblocker (Pendiomid u.a.), Adrenolytica (Ergotamin-tartrat) u.a. aufgehoben.

Weiter zeigte Mathies¹⁶, daß im Anschluß an eine Katecholaminwirkung vermutlich eine Heparin- und Histaminfreisetzung aus den Mastzellen ein weiteres Glied im Wirkungsablauf der hyaluronidasehemmenden Substanzen darstellt. Diese Annahme wurde durch die Tatsache gestützt, daß geringe Dosen von Heparin und Histamin eine Hyaluronidasehemmung gleicher Größenordnung hervorrufen, daß dieser Effekt durch Gabe einer heparininaktivierenden Substanz bzw. eines

Antihistaminicums (Avil) blockiert wird, und daß die Hyaluronidasehemmung der geprüften antirheumatischen Stoffe ebenfalls durch Applikation von Protaminsulfat und Avil aufgehoben wird. Daß die Katecholamine nicht direkt die Hyaluronidasehemmung bewirken, geht aus den Versuchsergebnissen von Mathies¹⁵ und Mathies u. Schlierf¹⁷ hervor, nach denen die Hyaluronidasehemmungsaktivität erst dann auftritt, wenn ein durch vorherige Katecholaminausschüttung erhöhtes Katecholaminblutspiegelniveau wieder auf tiefere Werte absinkt.

Aufgabe der vorgelegten Arbeit war es zu prüfen, ob das Resochin in seinem hyaluronidasehemmenden Wirkungsmechanismus den gleichen Gesetzen folgt.

Eigene Versuche

Methodik

Es wurden weiße, männliche Ratten im Gewicht von 150 bis 200 g für die Versuche verwendet. Die Hyaluronidasehemmung wurde durch Anwendung des Spreading-Testes gemessen und errechnet. Die Versuche wurden in Evipan-Narkose durchgeführt (30 mg Evipan-Natrium/100 g Tier s.c.), wobei nach Wilhelmi¹⁸ kein störender Einfluß von Barbituraten auf die Hyaluronidaseaktivität entsteht. Nachdem man die Bauchhaut vor dem Versuch mit Pilca säuberlich enthaart hatte, wurden zunächst je eine intracutane Quaddel von 0,1 ccm einer 0,6%igen Evansblaulösung und eine Farbstoff+Hyaluronidase-Quaddel gesetzt. Zur Herstellung der Farbstoff-Hyaluronidaselösung wurden in 2 ccm der oben genannten Endverdünnung der Farbstofflösung 150 IE Hyaluronidase (Kinetin) gelöst, so daß bei der intracutanen Injektion von 0,1 ccm 7,5 IE Hyaluronidase zur Wirkung kamen. Ausgewertet wurde die 10 Minuten nach Injektion erreichte Ausbreitung der Farbstoffflecken, indem die Konturen auf einen Zelluloidstreifen übertragen und planimetrisch ausgemessen wurden. Weitere Quaddelpaare der obigen Lösungen wurden zu verschiedenen Zeiten nach der Injektion der auf ihre Hyaluronidasehemmung zu prüfenden Substanzen gesetzt und jeweils nach 10 Minuten abgelesen.

Normalerweise zeigt die Farbstoff+Hyaluronidase-Quaddel eine weit

raschere Ausbreitung als die reine Farbstoffquaddel; dagegen weist die Farbstoff+Hyaluronidase-Quaddel eine gewisse Hemmung der Ausbreitung auf, wenn eine hyaluronidasehemmende Substanz appliziert wird.

Bei den Versuchen mit adrenaletomierten Tieren wurde die Operation in Äthernarkose durchgeführt. Die Tiere wurden anschließend mit Hafermark und Zucker kohlehydratreich ernährt und erhielten physiologische NaCl-Lösung als Trinkflüssigkeit zur Aufrechterhaltung des Ionenhaushaltes. Die adrenaletomierten Tiere wurden 48 Stunden nach dem Eingriff in Versuch genommen, da nach Untersuchungen von K a r g ¹⁹ in dieser Zeit eine Regeneration von funktionstüchtigem akzessorischen Nebennierengewebe kaum zu befürchten ist.

Versuchsreihe 1

Es wurde bei intakten Tieren zunächst vor dem Versuch eine Farbstoffquaddel und Farbstoff+Hyaluronidase-Quaddel in oben angegebener Zusammensetzung bzw. Verdünnung gesetzt und deren Ausbreitung nach 10 Minuten gemessen.

Sodann wurden 10 mg Resochin/100 g Tier s.c. injiziert und zu den Zeiten 30 und 50 Minuten (Versuchsreihe 1a) und 70 und 90 Minuten (Versuchsreihe 1b) nach Resochingabe erneut je eine Farbstoff- und eine Farbstoff+Hyaluronidase-Quaddel gesetzt und deren Ausbreitung gemessen. Die Versuchszeiten 30 und 50 Minuten bzw. 70 und 90 Minuten wurden jeweils an den gleichen Tieren bestimmt. Die Einzelergebnisse gehen aus der Tabelle 1 und 2 hervor.

Versuchsreihe 2

Die Methodik ist die gleiche wie bei der 1. Versuchsreihe. Es wurden lediglich Tiere zu dem Versuch verwendet, die 48 Stunden vorher adrenaletomiert worden waren. Die Versuchszeiten 30 und 50 Minuten nach Resochingabe wurden an den gleichen Tieren vorgenommen. Die Einzelwerte sind aus der Tabelle 3 ersichtlich.

Versuchsreihe 3

Es werden wiederum vor dem Versuch je eine Farbstoff- und eine Farbstoff+Hyaluronidase-Quaddel gesetzt, anschließend die Ausbreitung gemessen.

Tier Nr.	Farbst.-Qu. v o r	Farbst.+ Hy.-Qu.	Farbst.-Qu. 30 Min. nach	Farbst.+ Hy.-Qu.	Farbst.-Qu. 50 Min. nach	Farbst.+ Hy.-Qu.
10 mg Resochin/100 g Tier s.c. bei intakten Ratten						
1	115	200	90	155	100	145
2	105	210	100	160	100	150
3	110	200	100	160	90	150
4	105	195	95	165	95	145
5	110	195	100	155	95	145

T a b e l l e 1

(Versuchsreihe 1a)

Tier Nr.	Farbst.-Qu. v o r	Farbst.+ Hy.-Qu.	Farbst.-Qu. 70 Min. nach	Farbst.+ Hy.-Qu.	Farbst.-Qu. 90 Min. nach	Farbst.+ Hy.-Qu.
10 mg Resochin/100 g Tier s.c. bei intakten Ratten						
1	110	210	105	185	90	155
2	105	210	100	175	90	160
3	105	205	100	175	95	150
4	105	210	95	180	100	150
5	100	210	100	185	95	160

T a b e l l e 2

(Versuchsreihe 1b)

Tier Nr.	Farbst.-Qu.	Farbst.+ Hy.-Qu.	Farbst.-Qu.	Farbst.+ Hy.-Qu.	Farbst.-Qu.	Farbst.+ Hy.-Qu.
	v o r		30 Min. nach		50 Min. nach	
10 mg Resochin/100 g Tier s.c. bei adrenalectomierten Ratten						
1	100	200	100	215	100	145
2	100	200	105	205	100	145
3	110	210	100	220	105	150
4	105	205	105	220	100	150
5	110	200	105	205	105	150

T a b e l l e 3
(Versuchsreihe 2)

30 Minuten vor Gabe des Resochins (10 mg/100 g Tier s.c.) wurden 5 mg Pendiomid/100 g Tier i.v. appliziert (Versuchsreihe 3a). Weiter wurden 30 Minuten vor und 10 Minuten nach Gabe des Resochins je 5 mg Pendiomid/100 g Tier i.v. appliziert (Versuchsreihe 3b).

30 und 50 Minuten nach Gabe des Resochins wurden je eine Farbstoff- und eine Farbstoff+Hyaluronidase-Quaddel gesetzt und die 10-Minuten-Ausbreitung festgehalten. Die Einzelwerte sind aus den Tabellen 4 und 5 ersichtlich.

Versuchsreihe 4

Die Methodik ist die gleiche wie bei der vorigen Versuchsreihe. 30 Minuten vor Gabe des Resochins (10 mg/100 g Tier s.c.) wurden 0,8 mg Ergotamintartrat/100 g Tier s.c. appliziert (Versuchsreihe 4a). 30 Minuten vor und 20 Minuten nach Gabe des Resochins wurden je 0,8 mg Ergotamintartrat/100 g Tier s.c. appliziert (Versuchsreihe 4b).

Sowohl bei a) als auch bei b) werden dann die Zeiten 30 und 50 Minuten nach Injektion des Resochins bestimmt (Ergebnisse siehe Tabelle 6 und 7).

Versuchsreihe 5

Die Methodik der Bestimmung der Hyaluronidasehemmung ist die gleiche wie bei den vorigen Versuchen. Unmittelbar vor Gabe des Resochins (10 mg/100 g Tier) wurden 1,5 mg Protaminsulfat/Tier i.v. injiziert. Unmittelbar vor und 20 Minuten nach Gabe des Resochins wurden je 1,5 mg Protaminsulfat/Tier i.v. injiziert.

Bei a) und b) wieder Bestimmung der Maximalzeiten 30 und 50 Minuten nach Injektion des Resochins. Einzelwerte siehe Tabelle 8 und 9.

Versuchsreihe 6

Die Methodik ist die gleiche wie bei den letzten Versuchsreihen. 30 Minuten vor Gabe des Resochins wurden 5 mg Avil/100 g Tier i.v. injiziert (Versuchsreihe 6a). 50 Minuten vor Gabe des Resochins wurden 5 mg Avil/100 g Tier i.v. injiziert (Versuchsreihe 6b).

Bei a) und b) erfolgte wieder die Bestimmung der Zeiten 30 und 50 Minuten nach Injektion des Resochins. Ergebnisse siehe Tabelle 10 und 11.

Tier Nr.	Farbst.-Qu. v o r	Farbst.+ Hy.-Qu.	Farbst.-Qu. 30 Min. nach	Farbst.+ Hy.-Qu.	Farbst.-Qu. 50 Min. nach	Farbst.+ Hy.-Qu.
	10mg Resochin/100g Tier s.c., dieses 30 Min. nach 5 mg Pendiomid					
1	105	195	100	165	100	155
2	110	200	105	165	105	140
3	105	200	100	170	100	155
4	110	205	110	170	100	150
5	105	205	105	170	100	150

T a b e l l e 4
(Versuchsreihe 3a)

Tier Nr.	Farbst.-Qu. v o r	Farbst.+ Hy.-Qu.	Farbst.-Qu. 30 Min. nach	Farbst.+ Hy.-Qu.	Farbst.-Qu. 50 Min. nach	Farbst.+ Hy.-Qu.
	10 mg Resochin/100 g Tier s.c., dieses 30 Min. nach und 10 Min. vor je 5 mg Pendiomid/100 g i.v.					
1	110	195	100	200	105	190
2	115	210	100	200	115	190
3	115	200	110	200	105	190
4	110	205	105	200	110	195
5	110	200	100	185	105	185

T a b e l l e 5
(Versuchsreihe 3b)

Tier Nr.	Farbst.-Qu.	Farbst.+ Hy.-Qu.	Farbst.-Qu.	Farbst.+ Hy.-Qu.	Farbst.-Qu.	Farbst.+ Hy.-Qu.
	v o r		30 Min. nach		50 Min. nach	
	10 mg Resochin/100 g Tier s.c, dieses 30 Min. nach 0,8 mg Ergotamintartrat /100 g s.c.					
1	105	205	105	200	100	150
2	105	205	105	200	100	150
3	110	200	110	195	95	155
4	105	200	100	200	95	155
5	110	200	105	200	100	155

T a b e l l e 6
(Versuchsreihe 4a)

Tier Nr.	Farbst.-Qu.	Farbst.+ Hy.-Qu.	Farbst.-Qu.	Farbst.+ Hy.-Qu.	Farbst.-Qu.	Farbst.+ Hy.-Qu.
	v o r		30 Min. nach		50 Min. nach	
	10 mg Resochin/100 g Tier s.c., dieses 30 Min. nach und 10 Min. vor 0,8 mg Ergotamintartrat/100 g Tier s.c.					
1	115	200	110	190	100	190
2	110	200	100	200	110	180
3	100	210	105	190	95	200
4	105	210	100	185	100	190
5	105	195	100	200	100	200

T a b e l l e 7
(Versuchsreihe 4b)

Tier Nr.	Farbst.-Qu. Hy.-Qu.	Farbst.+ Hy.-Qu.	Farbst.-Qu. Hy.-Qu.	Farbst.+ Hy.-Qu.	Farbst.-Qu. Hy.-Qu.	Farbst.+ Hy.-Qu.
	v o r		30 Min. nach		50 Min. nach	
	10 mg Resochin/100 g Tier s.c., unmittelbar vorher 1,5 mg Protaminsulfat/Tier i.v.					
1	105	200	100	160	105	155
2	120	200	115	160	110	155
3	110	200	105	170	100	150
4	110	200	105	165	105	155
5	120	205	110	180	110	170

T a b e l l e 8
(Versuchsreihe 5a)

Tier Nr.	Farbst.-Qu. Hy.-Qu.	Farbst.+ Hy.-Qu.	Farbst.-Qu. Hy.-Qu.	Farbst.+ Hy.-Qu.	Farbst.-Qu. Hy.-Qu.	Farbst.+ Hy.-Qu.
	v o r		30 Min. nach		50 Min. nach	
	10 mg Resochin/100 g Tier s.c., unmittelbar vor und 20 Min. nach 1,5 mg Protaminsulfat/Tier i.v.					
1	115	200	110	200	115	195
2	115	210	115	200	110	200
3	120	210	110	205	110	195
4	120	205	115	195	110	200
5	105	210	110	205	105	190

T a b e l l e 9
(Versuchsreihe 5b)

Tier Nr.	Farbst.-Qu.	Farbst.+ Hy.-Qu.	Farbst.-Qu.	Farbst.+ Hy.-Qu.	Farbst.-Qu.	Farbst.+ Hy.-Qu.
	v o r		30 Min. nach		50 Min. nach	
	10 mg Mesochin/100 g Tier s.c., 30 Minuten vorher 5 mg Avil/100 g					
1	115	200	100	180	80	195
2	110	200	95	180	100	190
3	120	210	110	185	120	190
4	120	200	110	185	120	185
5	120	210	110	185	120	200

T a b e l l e 10
(Versuchsreihe 6a)

Tier Nr.	Farbst.-Qu.	Farbst.+ Hy.-Qu.	Farbst.-Qu.	Farbst.+ Hy.-Qu.	Farbst.-Qu.	Farbst.+ Hy.-Qu.
	v o r		30 Min. nach		50 Min. nach	
	10 mg Resochin/100 g Tier s.c., 50 Min. vorher 5 mg Avil/100 g i.v.					
1	110	215	110	190	110	180
2	120	205	110	185	105	190
3	110	210	105	185	110	180
4	105	200	110	190	105	195
5	105	190	100	185	110	200

T a b e l l e 11
(Versuchsreihe 6b)

Berechnung der prozentualen Hemmung

Zur Berechnung der prozentualen Hemmung der Hyaluronidaseaktivität wurde davon ausgegangen, daß die Ausbreitung der Farbstoff-Hyaluronidase-Quaddel vor Gabe der untersuchten Substanz einer 0%igen Hemmung gleichzusetzen ist. Die Farbstoffquaddel ohne Hyaluronidasebeimengung entspricht einer 100%igen Hemmung, da die Ausbreitung einer Farbstoff-Hyaluronidase-Quaddel mit vollständiger gehemmter Hyaluronidaseaktivität den gleichen Flächeninhalt aufweisen würde. Auf diese beiden Fixpunkte wurde die Flächenausbreitung der Farbstoff- und Farbstoff-Hyaluronidase-Quaddel zu den verschiedenen Zeiten nach Gabe der untersuchten Substanzen bezogen und prozentual berechnet. Die Farbstoffquaddel nach Gabe der Medikamente diente der statistischen Feststellung, inwieweit auch diese eine Änderung ihrer Flächenausbreitung erfährt, und ob der hemmende Effekt gegebenenfalls als unspezifisch bezeichnet werden muß, wobei allerdings ein etwaiger Einfluß auf die natürliche Gewebshyaluronidase ebenfalls zu berücksichtigen wäre. Die statistische Auswertung (s.u.) hat jedoch ergeben, daß nur ein geringer Einfluß auf die Ausbreitung der reinen Farbstoff-Quaddel besteht.

Statistische Auswertung der Versuchsergebnisse

1. Statistische Methode und statistisches Modell

Bei der statistischen Auswertung der Versuchsergebnisse wurde zunächst das Verhalten der beiden Quaddel-Typen (reine Farbstoff-Quaddel bzw. Farbstoff-Hyaluronidase-Quaddel) getrennt untersucht. In beiden Fällen verwandten wir die gleiche Methode der Auswertung.

Zugrunde gelegt wurde ein additives, lineares statistisches Modell. Dieses berücksichtigt, daß jeder Meßwert wesentlich durch zwei Faktoren bestimmt wird, nämlich dem jeweiligen Versuchstier und dem jeweiligen Zeitpunkt, zu dem die Bestimmung innerhalb der Versuchsreihe vorgenommen wurde. Dem statistischen Modell liegt die Annahme zugrunde, daß sich diese beiden Faktoren in ihrer Wirkung unabhängig und in additiver Form superponieren.

Die Zweckmäßigkeit eines statistischen Modelles ergibt sich aus der Übereinstimmung zwischen den tatsächlich beobachteten Werten und denjenigen Werten, die nach dem Modell zu erwarten sind. Welchen Grad der Abweichung man zwischen realem Sachverhalt und theore-

tischem Modell tolerieren will, ist eine Ermessensfrage, deren Entscheidung von Fall zu Fall getroffen werden muß. Es ist sinnvoll und auch üblich zu verlangen, daß diese Abweichungen nicht größer sein dürfen als der Fehler, den die angewandte experimentelle Methode besitzt. Bei den Ergebnissen früherer Versuche, bei denen der experimentelle Fehler mittels Doppelbestimmungen geschätzt wurde, konnten wir zeigen, daß die Abweichungen zwischen unserem statistischen Modell und dem real beobachteten Sachverhalt nicht größer als der experimentelle Fehler war. Dieses besagt, daß das gewählte Modell den realen Sachverhalt in ausreichender Genauigkeit wiedergibt.

Die Wahl des statistischen Modelles impliziert die Methode der Auswertung, nämlich eine mehrfache Varianz-Analyse. Diese liefert zunächst in der Form der "Rest-Varianz" eine Schätzung des Versuchsfehlers. Neben dem experimentellen Fehler ist in diesem Prüfungsfehler noch die biologische Variabilität in dem Verhalten der Versuchstiere gegenüber dem experimentellen Eingriff enthalten. Im Prinzip ist die Rest-Varianz ein Maß für die Übereinstimmung zwischen Modell und beobachtetem Sachverhalt. Die Varianz-Analyse liefert weiter eine Entscheidung darüber, ob die Diffusionsgeschwindigkeit des beobachteten Quaddel-Typus während des Versuches eine statistisch gesicherte Änderung erfahren hat oder nicht. Maßgebend hierfür ist die Größe der Varianz-Komponente "zwischen den Zeiten" im Vergleich zu dem Versuchsfehler, d.h. der Rest-Varianz. Ist die Varianz-Komponente "zwischen den Zeiten" statistisch wesentlich größer als die Rest-Varianz, so kann als statistisch gesichert gelten, daß eine Veränderung in der Diffusionsgeschwindigkeit vorliegt. Geprüft wird dieses mit Hilfe des Varianz-Quotienten $F_{\text{emp.}}$ zwischen diesen beiden Varianz-Komponenten. Die Überschreitungswahrscheinlichkeit dieses Varianz-Quotienten in der zugehörigen F-Prüfverteilung ist die Irrtumswahrscheinlichkeit p , mit der behauptet werden kann, daß solche Veränderungen vorliegen. Eine statistische Sicherung kann nur dann angenommen werden, daß diese Irrtumswahrscheinlichkeit p nicht größer als 5% ist.

Die Varianz-Komponente "zwischen den Tieren" liefert eine Aussage darüber, ob sich die verschiedenen Versuchstiere hinsichtlich ihres "Reaktions-Niveaus" unterscheiden. Für die Fragestellung der vorliegenden Versuche ist das Verhalten dieser Varianz-Komponente

allerdings nur von untergeordneter Bedeutung. In der statistischen Auswertung der Versuche spielt sie jedoch eine ausschlaggebende Rolle (s.u.).

Zur Beurteilung etwaiger Veränderungen in der Diffusionsgeschwindigkeit eines Quaddel-Typus ist es notwendig, einen statistischen Schätzwert für die Größe dieser Veränderungen zu besitzen. Ist $\bar{x}_t$ der Mittelwert aus allen zum Zeitpunkt t einer Versuchsreihe bestimmten Flächen eines Quaddel-Typus, so ist $\bar{x}_t - \bar{x}_v$ ein statistischer Schätzwert für die Größe der Veränderung zum Zeitpunkt t gegenüber dem Ausgangswert. ($\bar{x}_v$ bedeutet hierin den Mittelwert, der zu den Ausgangswerten gehört.) Entsprechend dem statistischen Modell wird dabei angenommen, daß die Veränderungen eines Quaddel-Typus innerhalb einer Versuchsreihe von dem individuellen Versuchstier unabhängig sind. Die Abweichungen von dieser Annahme kommen als Versuchsfehler in der Rest-Varianz zum Ausdruck. Die Entscheidung darüber, ob ein Quaddel-Typus während einer Versuchsreihe eine Veränderung erfährt, liefert ausschließlich die Varianz-Analyse. Sie macht allerdings keine Aussage darüber, zu welchem Zeitpunkt der Versuchsreihe speziell eine Veränderung gegenüber dem Ausgangswert vorliegt. Um auch diese Frage zu entscheiden, ist es notwendig, im Anschluß an die Varianz-Analyse den Duncan-Test durchzuführen. Dieser dient zur simultanen Prüfung mehrerer Mittelwertsdifferenzen im Anschluß an eine Varianz-Analyse. Er liefert für jeden Zeitpunkt t die Irrtumswahrscheinlichkeit, mit der behauptet werden kann, die Veränderung $\bar{x}_t - \bar{x}_v$ zu diesem Zeitpunkt gegenüber dem Ausgangswert sei gesichert von 0 verschieden. Auch hier liegt eine statistische Sicherung nur dann vor, wenn diese Irrtumswahrscheinlichkeit nicht größer als 5% ist.

Für die Beurteilung der Versuchsergebnisse sind neben den Mittelwerten $\bar{x}_t$ auch noch die Varianzen s_t^2 zwischen den Werten, die zum Zeitpunkt t einer Versuchsreihe bestimmt wurden, von Bedeutung. Treffen die Annahmen des statistischen Modelles zu, so müssen diese Varianzen untereinander homogen sein. Ob dieses der Fall ist, wurde von uns mittels des Bartlett-Testes geprüft. Es darf angenommen werden, daß die verglichenen Varianzen untereinander homogen sind, wenn die bei der Durchführung des Bartlett-Testes errechnete Prüfgröße χ^2_{emp} in der zugehörigen Chi-Quadrat-Verteilung von $n = 2$ Freiheitsgraden eine Überschreitungswahrscheinlichkeit besitzt, die größer als 5% ist.

Bei einigen Versuchsreihen war es noch von Interesse, das Verhalten der beiden Quaddel-Typen miteinander zu vergleichen. In diesen Fällen wurde eine mehrfache Varianz-Analyse unter der Annahme durchgeführt, daß sich die beiden Quaddel-Typen nur hinsichtlich ihrer absoluten Größe, nicht jedoch hinsichtlich ihres sonstigen Verhaltens unterscheiden. Insbesondere wird also angenommen, daß die Veränderungen, welche die Diffusionsgeschwindigkeiten zu einem Zeitpunkt t des Versuches gegenüber ihrem Ausgangswert erfahren, für beide Quaddel-Typen gleich sind. Ob diese Annahme zutrifft, ergibt sich bei diesen mehrfachen Varianz-Analysen aus dem Vergleich der Wechselwirkung "Zeiten - Quaddel" mit der "Rest-Varianz" mittels des Varianz-Quotienten $F_{\text{emp.}}$. Ist diese Wechselwirkung "Zeiten - Quaddel" nicht wesentlich größer als die Rest-Varianz, so darf angenommen werden, daß sich die beiden Quaddel-Typen gleichartig verhalten, d.h. daß sich die Diffusionsgeschwindigkeiten der beiden Quaddel-Typen um die gleichen Beträge verändern.

2. Ergebnisse der statistischen Auswertung

Die Ergebnisse der Varianz-Analysen finden sich in den Tabellen 12-22. In den Schemata der Varianz-Analysen bedeutet

- n: Zahl der Freiheitsgrade der Varianz-Komponente;
- SAQ: Summen-Abstands-Quadrat der Varianz-Komponente;
- MAQ: Mittleres-Abstands-Quadrat der Varianz-Komponente;
- $F_{\text{emp.}}$: Varianz-Quotient zwischen der Varianz-Komponente
 und der Rest-Varianz;
- p: Überschreitungswahrscheinlichkeit von $F_{\text{emp.}}$ in der
 zugehörigen F-Prüfverteilung (nur angegeben, wenn
 p höchstens 5% ist).

Am Fuße der Varianz-Analysen ist außerdem das Ergebnis des zugehörigen Bartlett-Testes angegeben. p bedeutet hierin die Überschreitungswahrscheinlichkeit, die der Prüfgröße $\chi^2_{\text{emp.}}$ höchstens zukommt.

Die Mittelwerte $\bar{x}_t$, die Varianzen s_t^2 und die Schätzwerte $\bar{x}_t - \bar{x}_v$ für die Veränderungen in den Diffusionsgeschwindigkeiten zu den verschiedenen Zeitpunkten t sind in den Tabellen 23-33 angegeben. In diesen Tabellen findet sich außerdem für diejenigen Versuchsreihen, bei denen angenommen werden darf, daß sich die beiden Quaddel-Typen in gleicher Weise verhalten, in der Spalte "D" ein statistischer Schätzwert für die gemeinsame Veränderung der Diffusionsgeschwindig-

keit beider Quaddel-Typen. Dieser wurde unter der Hypothese völlig gleichartigen Verhaltens beider Quaddel-Typen errechnet und weicht daher etwas von denjenigen Schätzwerten ab, die einzeln für jeden Quaddel-Typus in der Spalte " $\bar{x}_t - \bar{x}_v$ " angegeben sind. Das Ergebnis des Duncan-Testes findet sich in der Spalte "Sicherung". Ist die Irrtumswahrscheinlichkeit p für die Aussage, es läge zu dem betreffenden Zeitpunkt eine gesicherte Veränderung in der Diffusionsgeschwindigkeit vor, nicht größer als 5%, so wurde diese Irrtumswahrscheinlichkeit in der angegebenen Spalte der Tabelle vermerkt, anderenfalls enthält die Spalte keine Angaben.

Farbstoff-Quaddel

Varianz-Komponente	n	SAQ	MAQ	F _{emp.}	p
Zwischen Tieren	4	27	6,7	-	
Zwischen Zeiten	2	523	261,5	10,85	1%
Rest-Varianz	8	193	24,1		
Gesamt-Varianz	14	743	53,0		

$$n = 2; \chi^2_{\text{emp.}} = 0,002; \quad p = 99\%$$

Farbstoff+Hyaluronidase-Quaddel

Varianz-Komponente	n	SAQ	MAQ	F _{emp.}	p
Zwischen Tieren	4	123	30,7	1,93	-
Zwischen Zeiten	2	7,723	3.861,5	24,28	0,1%
Rest-Varianz	8	127	15,9		
Gesamt-Varianz	14	7.973	569,5		

$$n = 2; \chi^2_{\text{emp.}} = 2,413; \quad p = 20\%$$

T a b e l l e 12
(Versuchsreihe 1a)

Farbstoff-Quaddel

Varianz-Komponente	n	SAQ	MAQ	F _{emp.}	p
Zwischen Tieren	4	23	5,7	-	
Zwischen Zeiten	2	303	151,5	8,23	5%
Rest-Varianz	8	147	18,4		
Gesamt-Varianz	14	473	33,8		

$$n = 2; \chi^2_{\text{emp.}} = 0,184; \quad p = 90\%$$

Farbstoff+Hyaluronidase-Quaddel

Varianz-Komponente	n	SAQ	MAQ	F _{emp.}	p
Zwischen Tieren	4	123	30,7	2,53	-
Zwischen Zeiten	2	7.303	3.651,5	100,00	0,1%
Rest-Varianz	8	97	12,1		
Gesamt-Varianz	14	7.523	537,4		

$$n = 2; \chi^2_{\text{emp.}} = 2,694; \quad p = 20\%$$

T a b e l l e 13
(Versuchsreihe 1b)

Farbstoff-Quaddel

Varianz-Komponente	n	SAQ	MAQ	F _{emp.}	p
Zwischen Tieren	4	83	20,7	2,16	-
Zwischen Zeiten	2	23	11,5	1,20	
Rest-Varianz	8	77	9,6		
Gesamt-Varianz	14	183	13,1		

$$n = 2; \quad \chi^2_{\text{emp.}} = 2,058; \quad p = 30\%$$

Farbstoff+Hyaluronidase-Quaddel

Varianz-Komponente	n	SAQ	MAQ	F _{emp.}	p
Zwischen Tieren	4	223	55,7	3,81	5%
Zwischen Zeiten	2	12.250	6.125,0	100,00	0,1%
Rest-Varianz	8	117	14,6		
Gesamt-Varianz	14	12.590	899,3		

$$n = 2; \quad \chi^2_{\text{emp.}} = 3,865; \quad p = 10\%$$

T a b e l l e 14
(Versuchsreihe 2)

Farbstoff-Quaddel

Varianz-Komponente	n	SAQ	MAQ	F _{emp.}	p
Zwischen Tieren	4	77	19,2	3,56	-
Zwischen Zeiten	2	90	45,0	8,33	5%
Rest-Varianz	8	43	5,4		
Gesamt-Varianz	14	210	15,0		

$$n = 2; \chi^2_{\text{emp.}} = 1,685; p = 30\%$$

Farbstoff+Hyaluronidase-Quaddel

Varianz-Komponente	n	SAQ	MAQ	F _{emp.}	p
Zwischen Tieren	4	107	26,7	1,49	-
Zwischen Zeiten	2	6.690	3.345,0	100,00	0,1%
Rest-Varianz	8	143	17,9		
Gesamt-Varianz	14	6.940	495,7		

$$n = 2; \chi^2_{\text{emp.}} = 2,413; p = 20\%$$

Tabelle 15
(Versuchsreihe 3a)

Farbstoff-Quaddel

Varianz-Komponente	n	SAQ	MAQ	F _{emp.}	p
Zwischen Tieren	4	77	19,2	1,36	-
Zwischen Zeiten	2	203	101,5	7,20	5%
Rest-Varianz	8	113	14,1		
Gesamt-Varianz	14	393	28,1		

$$n = 2; \quad \chi^2_{\text{emp.}} = 1,085; \quad p = 50\%$$

Farbstoff+Hyaluronidase-Quaddel

Varianz-Komponente	n	SAQ	MAQ	F _{emp.}	p
Zwischen Tieren	4	207	51,7	2,71	-
Zwischen Zeiten	2	363	181,5	9,50	1%
Rest-Varianz	8	153	19,1		
Gesamt-Varianz	14	723	51,6		

$$n = 2; \quad \chi^2_{\text{emp.}} = 1,559; \quad p = 50\%$$

T a b e l l e 16
(Versuchsreihe 3b)

Farbstoff-Quaddel

Varianz-Komponente	n	SAQ	MAQ	F _{emp.}	p
Zwischen Tieren	4	50	12,5	1,67	-
Zwischen Zeiten	2	223	111,5	14,87	1%
Rest-Varianz	8	60	7,5		
Gesamt-Varianz	14	333	23,8		

n = 2; $\chi^2_{\text{emp.}} = 0,408$; p = 80%

Farbstoff+Hyaluronidase-Quaddel

Varianz-Komponente	n	SAQ	MAQ	F _{emp.}	p
Zwischen Tieren	4	7	1,7	-	
Zwischen Zeiten	2	7.543	3.771,5	100,00	0,1%
Rest-Varianz	8	73	9,1		
Gesamt-Varianz	14	7.623	544,5		

n = 2; $\chi^2_{\text{emp.}} = 0,268$; p = 80%

T a b e l l e 17
(Versuchsreihe 4a)

Farbstoff-Quaddel

Varianz-Komponente	n	SAQ	MAQ	F _{emp.}	p
Zwischen Tieren	4	157	39,2	1,81	-
Zwischen Zeiten	2	93	18,6	-	-
Rest-Varianz	8	173	21,6		
Gesamt-Varianz	14	423	30,2		

$$n = 2; \chi^2_{\text{emp.}} = 1,812; \quad p = 30\%$$

Farbstoff+Hyaluronidase-Quaddel

Varianz-Komponente	n	SAQ	MAQ	F _{emp.}	p
Zwischen Tieren	4	110	27,5	-	-
Zwischen Zeiten	2	370	185,0	2,79	-
Rest-Varianz	8	530	66,2		
Gesamt-Varianz	14	1.010	72,1		

$$n = 2; \chi^2_{\text{emp.}} = 0,264; \quad p = 80\%$$

Varianz-Komponente	n	SAQ	MAQ	F _{emp.}	p
Zwischen Tieren	4	20	5,00	-	-
Zwischen Zeiten	2	411	205,50	3,14	-
Zwischen Quaddeln	1	63.940	63.940,00	100,00	0,1%
Tiere - Quaddeln	4	247	61,75	-	
Tiere - Zeiten	8	180	22,50	-	
Zeiten - Quaddeln	2	53	26,50	-	
Rest-Varianz	8	523	65,37		
Gesamt-Varianz	29	65.374	2.254,27		

T a b e l l e 18
(Versuchsreihe 4b)

Farbstoff-Quaddel

Varianz-Komponente	n	SAQ	MAQ	F _{emp.}	p
Zwischen Tieren	4	323	80,7	11,36	1%
Zwischen Zeiten	2	143	71,5	10,07	1%
Rest-Varianz	8	57	7,1		
Gesamt-Varianz	14	523	37,4		

$$n = 2; \quad \chi^2_{\text{emp.}} = 0,875; \quad p = 50\%$$

Farbstoff+Hyaluronidase-Quaddel

Varianz-Komponente	n	SAQ	MAQ	F _{emp.}	p
Zwischen Tieren	4	383	95,7	5,20	5%
Zwischen Zeiten	2	5.320	2.660,0	100,00	0,1%
Rest-Varianz	8	147	18,4		
Gesamt-Varianz	14	5.820	415,7		

$$n = 2; \quad \chi^2_{\text{emp.}} = 5,826; \quad p = 5\%$$

T a b e l l e 19
(Versuchsreihe 5a)

Farbstoff-Quaddel

Varianz-Komponente	n	SAQ	MAQ	F _{emp.}	p
Zwischen Tieren	4	127	31,7	2,46	-
Zwischen Zeiten	2	65	31,5	2,44	-
Rest-Varianz	8	103	12,9		
Gesamt-Varianz	14	293	20,9		

$$n = 2; \quad \chi^2_{\text{emp.}} = 2,799; \quad p = 20\%$$

Farbstoff+Hyaluronidase-Quaddel

Varianz-Komponente	n	SAQ	MAQ	F _{emp.}	p
Zwischen Tieren	4	57	14,2	-	
Zwischen Zeiten	2	303	151,5	7,42	5%
Rest-Varianz	8	163	20,4		
Gesamt-Varianz	14	523	37,3		

$$n = 2; \quad \chi^2_{\text{emp.}} = 0,002; \quad p = 99\%$$

T a b e l l e 20
(Versuchsreihe 5b)

Farbstoff-Quaddel

Varianz-Komponente	n	SAQ	MAQ	F _{emp.}	p
Zwischen Tieren	4	557	139,2	25,78	0,1%
Zwischen Zeiten	2	390	195,0	36,11	0,1%
Rest-Varianz	8	43	5,4		
Gesamt-Varianz	14	990	70,7		

$$n = 2; \chi^2_{\text{emp.}} = 1,785; p = 30\%$$

Farbstoff+Hyaluronidase-Quaddel

Varianz-Komponente	n	SAQ	MAQ	F _{emp.}	p
Zwischen Tieren	4	157	39,2	2,54	-
Zwischen Zeiten	2	1.110	555,0	36,04	0,1%
Rest-Varianz	8	123	15,4		
Gesamt-Varianz	14	1.390	99,3		

$$n = 2; \chi^2_{\text{emp.}} = 2,192; p = 30\%$$

Tabelle 21
(Versuchsreihe 6a)

Farbstoff-Quaddel					
Varianz-Komponente	n	SAQ	MAQ	F _{emp.}	p
Zwischen Tieren	4	83	20,7	1,21	-
Zwischen Zeiten	2	63	31,5	1,84	-
Rest-Varianz	8	137	17,1		
Gesamt-Varianz	14	283	20,2		

$$n = 2; \chi^2_{\text{emp.}} = 1,769; \quad p = 30\%$$

Farbstoff+Hyaluronidase-Quaddel					
Varianz-Komponente	n	SAQ	MAQ	F _{emp.}	p
Zwischen Tieren	4	33	8,2	-	
Zwischen Zeiten	2	1.213	606,5	14,40	1%
Rest-Varianz	8	337	42,1		
Gesamt-Varianz	14	1.583	113,1		

$$n = 2; \chi^2_{\text{emp.}} = 3,074; \quad p = 20\%$$

T a b e l l e 22
(Versuchsreihe 6b)

	$\bar{x}$	s^2	$\bar{x}_t - \bar{x}_v$	Hemmung	Sicherung
F_v	109	17,5			
FH_v	200	37,5			
$F_{30'}$	97	20,0	- 12		1%
$FH_{30'}$	159	17,5	- 41	41,3%	1%
$F_{50'}$	96	17,5	- 13		1%
$FH_{50'}$	147	7,5	- 53	53,3%	1%

T a b e l l e 23
(Versuchsreihe 1a)

	$\bar{x}$	s^2	$\bar{x}_t - \bar{x}_v$	Hemmung	Sicherung
F_v	105	12,5			
FH_v	209	5,0			
$F_{70'}$	100	12,5	- 5		-
$FH_{70'}$	180	25,0	- 29	26,5%	1%
$F_{90'}$	94	17,5	- 11		5%
$FH_{90'}$	155	25,0	- 54	49,4%	1%

T a b e l l e 24
(Versuchsreihe 1b)

	$\bar{x}$	s^2	$\bar{x}_t - \bar{x}_v$	Hemmung	Sicherung
F_v	105	25,0			
FH_v	203	20,0			
$F_{30'}$	103	7,5	- 2		
$FH_{30'}$	213	57,5	+ 10	-10,0%	1%
$F_{50'}$	102	7,5	- 3		
$FH_{50'}$	148	7,5	- 55	55,2%	1%

T a b e l l e 25
(Versuchsreihe 2)

	$\bar{x}$	s^2	$\bar{x}_t - \bar{x}_v$	Hemmung	Sicherung
F_v	107	7,5			
FH_v	201	17,5			
$F_{30'}$	104	17,5	- 3		-
$FH_{30'}$	168	7,5	- 33	34,1%	1%
$F_{50'}$	101	5,0	- 6		5%
$FH_{50'}$	150	37,5	- 51	52,6%	1%

T a b e l l e 26
(Versuchsreihe 3a)

	$\bar{x}$	s^2	$\bar{x}_t - \bar{x}_v$	Hemmung	Sicherung
F_v	112	7,5			
FH_v	202	32,5			
$F_{30'}$	103	20,0	- 9		5%
$FH_{30'}$	197	45,0	- 5	4,6%	-
$F_{50'}$	108	20,0	- 4		-
$FH_{50'}$	190	12,5	- 12	11,1%	1%

T a b e l l e 27
(Versuchsreihe 3b)

	$\bar{x}$	s^2	$\bar{x}_t - \bar{x}_v$	Hemmung	Sicherung
F_v	107	7,5			
FH_v	202	7,5			
$F_{30'}$	105	12,5	- 2		
$FH_{30'}$	199	5,0	- 3	3,0%	-
$F_{50'}$	98	7,5	- 9		1%
$FH_{50'}$	153	7,5	- 49	49,7%	1%

T a b e l l e 28
(Versuchsreihe 4a)

	$\bar{x}$	s^2	$\bar{x}_t - \bar{x}_v$	Hemmung	D
F_v	107	32,5			
FH_v	203	45,0			
$F_{30'}$	103	20,0	- 4		-7,0
$FH_{30'}$	193	45,0	- 10		-7,0
$F_{50'}$	101	30,0	- 6		-8,5
$FH_{50'}$	192	70,0	- 11		-8,5

T a b e l l e 29
(Versuchsreihe 4b)

	$\bar{x}$	s^2	$\bar{x}_t - \bar{x}_v$	Hemmung	Sicherung
F_v	113	45,0			
FH_v	201	5,0			
$F_{30'}$	107	32,5	- 6		1%
$FH_{30'}$	167	70,0	- 34	36,8%	1%
$F_{50'}$	106	17,5	- 7		1%
$FH_{50'}$	157	57,5	- 44	47,6%	1%

T a b e l l e 30
(Versuchsreihe 5a)

	$\bar{x}$	s^2	$\bar{x}_t - \bar{x}_v$	Hemmung	Sicherung
F_v	115	37,5			
FH_v	207	20,0			
$F_{30'}$	112	7,5	- 3		
$FH_{30'}$	201	17,5	- 6	6,33%	-
$F_{50'}$	110	12,5	- 5		
$FH_{50'}$	196	17,5	- 11	11,60%	5%

T a b e l l e 31
(Versuchsreihe 5b)

	$\bar{x}$	s^2	$\bar{x}_t - \bar{x}_v$	Hemmung	Sicherung
F_v	117	20,0			
FH_v	204	30,0			
$F_{30'}$	105	50,0	- 12		1%
$FH_{30'}$	183	7,5	- 21	22,8%	1%
$F_{50'}$	114	80,0	- 3		-
$FH_{50'}$	192	32,5	- 12	13,0%	1%

T a b e l l e 32

(Versuchsreihe 6a)

	$\bar{x}$	s^2	$\bar{x}_t - \bar{x}_v$	Hemmung	Sicherung
F_v	111	30,0			
FH_v	206	42,5			
$F_{30'}$	108	7,5	- 3		
$FH_{30'}$	188	7,5	- 18	18,4%	1%
$F_{50'}$	106	17,5	- 5		
$FH_{50'}$	186	42,5	- 20	20,5%	1%

T a b e l l e 33

(Versuchsreihe 6b)

Im einzelnen führt die statistische Auswertung zu nachstehenden Ergebnissen:

Versuchsreihe 1:

Sowohl die Varianz-Analysen als auch der Duncan-Test zeigen, daß beide Quaddel-Typen eine statistisch gesicherte Verminderung ihrer Diffusionsgeschwindigkeit erfahren. Auch hier verläuft das Geschehen bei der reinen Farbstoff-Quaddel völlig parallel demjenigen bei der Farbstoff+Hyaluronidase-Quaddel, es ist interessant zu bemerken, daß beide Quaddel-Typen zum Zeitpunkt 90' p.i. gegenüber dem Zeitpunkt 70' p.i. eine erneute Verminderung ihrer Diffusionsgeschwindigkeit erfahren. Die maximale Hemmung der Hyaluronidaseaktivität tritt zum Zeitpunkt 90' p.i. auf, sie hat jedoch annähernd den gleichen Wert wie zum Zeitpunkt 50' p.i.. Aus den Schätzwerten $\bar{x}_t - \bar{x}_v$ für die Veränderungen geht hervor, daß die Farbstoff+Hyaluronidase-Quaddel wesentlich stärker gehemmt wird als die reine Farbstoff-Quaddel.

Versuchsreihe 2:

Bei dieser Versuchsreihe ergibt sich aus den Varianz-Analysen, daß nur für die Farbstoff+Hyaluronidase-Quaddel eine statistisch gesicherte Veränderung in der Diffusionsgeschwindigkeit eintritt. Die Schätzwerte $\bar{x}_t - \bar{x}_v$ für diese Veränderungen zeigen, daß es sich zum Zeitpunkt 30' p.i. um eine Vergrößerung der Diffusionsgeschwindigkeit, zum Zeitpunkt 50' p.i. um eine Verringerung der Diffusionsgeschwindigkeit der Farbstoff+Hyaluronidase-Quaddel handelt. Bemerkenswert ist, daß zum Zeitpunkt 50' p.i. die Hemmung der Hyaluronidaseaktivität bei dieser Versuchsreihe vollkommen derjenigen entspricht, die bei Anwendung von Resochin an Normaltieren eintritt. Hinsichtlich der Farbstoff+Hyaluronidase-Quaddel unterscheidet sich demnach das Verhalten der adrenaletomierten Tiere gegenüber demjenigen der Normaltiere nur hinsichtlich der Vergrößerung der Diffusionsgeschwindigkeit zum Zeitpunkt 30' p.i.. Im Gegensatz zu den Normaltieren zeigen jedoch die adrenaletomierten Tiere keine gesicherte Veränderung der reinen Farbstoff-Quaddel. Auch bei dieser Versuchsreihe ergab der Bartlett-Test das erwartete Ergebnis.

Versuchsreihe 3a:

Aus den Varianz-Analysen ergibt sich auch in dieser Versuchsreihe, daß statistisch gesicherte Veränderungen in den Diffusionsgeschwindig-

keiten der beiden Quaddel-Typen vorliegen, die allerdings für die reine Farbstoff-Quaddel nur schwach gesichert sind. Die Schätzwerte $\bar{x}_t - \bar{x}_v$ für diese Veränderungen zeigen, daß es sich hierbei um Hemmungen der Hyaluronidaseaktivität bzw. der Diffusionsgeschwindigkeit der reinen Farbstoff-Quaddel handelt. Lediglich für den Zeitpunkt 30' p.i. ist diese Hemmung der Hyaluronidaseaktivität bei der vorliegenden Versuchsreihe etwas kleiner als bei der alleinigen Anwendung von Resochin. Die Verminderungen in den Flächen der reinen Farbstoff-Quaddel sind allerdings bei dieser Versuchsreihe zu allen Zeitpunkten wesentlich kleiner als bei der alleinigen Anwendung von Resochin.

Versuchsreihe 3b:

Das Ergebnis der Varianz-Analysen ist bei dieser Versuchsreihe genau das gleiche wie bei der vorangegangenen. Lediglich die Größe der Schätzwerte $\bar{x}_t - \bar{x}_v$ für die Veränderungen der beiden Quaddel-Typen ist gegenüber der vorangegangenen Versuchsreihe kleiner. Da sie außerdem wesentlich kleiner sind als die entsprechenden Veränderungen bei der alleinigen Anwendung von Resochin, ergibt sich aus dieser Versuchsreihe, daß bei der getroffenen Versuchsanordnung teilweise eine Blockade der hyaluronidasehemmenden Aktivität des Resochins erzielt wird. Der Bartlett-Test lieferte bei dieser Versuchsreihe das erwartete Ergebnis.

Versuchsreihe 4a:

Sowohl bei der reinen Farbstoff-Quaddel als auch bei der Farbstoff+Hyaluronidase-Quaddel treten in dieser Versuchsreihe statistisch gesicherte Veränderungen auf. Aus den Schätzwerten $\bar{x}_t - \bar{x}_v$ ergibt sich, daß es sich hierbei um Verminderungen in der Diffusionsgeschwindigkeit handelt. Ein Vergleich mit den entsprechenden Änderungen bei abschließlicher Applikation von Resochin zeigt, daß eine Blockade der hyaluronidasehemmenden Wirkung des Resochin durch Ergotamin nur zu dem Zeitpunkt 30' p.i. in dieser Versuchsreihe nachweisbar ist. Zum Zeitpunkt 50' p.i. liegt eine Verminderung in der Diffusionsgeschwindigkeit der Farbstoff+Hyaluronidase-Quaddel vor, die praktisch derjenigen entspricht, welche bei alleiniger Applikation von Resochin zu diesem Zeitpunkt bewirkt wird. Der Bartlett-Test liefert auch bei dieser Versuchsreihe das erwartete Ergebnis.

Versuchsreihe 4b:

Bei dieser Versuchsreihe liefern die Varianz-Analysen keinen Hinweis dafür, daß die Veränderungen der beiden Quaddel-Typen anders als nur zufälliger Natur sind. Es ist jedoch bei diesem Ergebnis zu berücksichtigen, daß die Rest-Varianzen in den Varianz-Analysen dieser Versuchsreihe wesentlich größer sind als bei der vorangegangenen Versuchsreihe. Dies kann als ein Hinweis dafür aufgefaßt werden, daß die Versuchstiere auf die zweite Applikation des Ergotamin wesentlich uneinheitlicher reagieren als sie es tun, wenn das Ergotamin wie bei der vorangegangenen Versuchsreihe wesentlich vor Resochin verabreicht wird. Es fällt außerdem auf, daß die Schätzwerte $\bar{x}_t - \bar{x}_v$ für die Veränderungen in der Diffusionsgeschwindigkeit durchweg negativ sind und außerdem einen gleichmäßig ansteigenden Trend besitzen. Es ist demnach durchaus denkbar, daß auch bei dieser Versuchsreihe tatsächlich eine Hemmung der Hyaluronidaseaktivität auftritt, die nur wegen des großen Versuchsfehlers statistisch nicht zu sichern war. Auf alle Fälle ist jedoch diese Hyaluronidasehemmung wesentlich kleiner als bei einer alleinigen Applikation von Resochin und zumindest zum Zeitpunkt 50' p.i. auch wesentlich kleiner als bei der vorangegangenen Versuchsreihe.

Bei dieser Versuchsreihe schien es von Interesse zu prüfen, ob etwa die Veränderungen der beiden Quaddel-Typen von gleicher Größe sind, wie es zu erwarten wäre, wenn eine Blockade der Hyaluronidasehemmung vorliegt. Dieses wurde mittels der dreifachen Varianz-Analyse geprüft, die ebenfalls in der Tabelle 18 angegeben ist. Da in dieser Varianz-Analyse die Wechselwirkung "Zeiten-Quaddel" kleiner ist als die Rest-Varianz, so darf angenommen werden, daß sich beide Quaddel-Typen gleichartig verhalten. Die Veränderungen in den Diffusionsgeschwindigkeiten der beiden Quaddel-Typen, die sich unter dieser Annahme ergeben, sind in der Spalte "D" der Tabelle 29 angegeben. In keinem Falle waren diese Änderungen zu sichern; allerdings gilt auch hier die bereits oben gemachte Bemerkung über die Größe der Rest-Varianz. Der Bartlett-Test lieferte auch bei dieser Versuchsreihe das erwartete Ergebnis.

Versuchsreihe 5a:

Aus den Varianz-Analysen ergibt sich, daß bei dieser Versuchsreihe für beide Quaddel-Typen statistisch hoch gesicherte Veränderungen in

den Diffusionsgeschwindigkeiten vorliegen. Die Schätzwerte $\bar{x}_t - \bar{x}_v$ für diese Veränderungen zeigen, daß es sich hierbei um Hemmungen handelt, die praktisch nicht wesentlich von denjenigen verschieden sind, die man bei alleiniger Anwendung von Resochin erhält. Das Ergebnis des Bartlett-Testes entsprach auch bei dieser Versuchsreihe den Erwartungen.

Versuchsreihe 5b:

Bei dieser Versuchsreihe liefern die Varianz-Analysen nur für die Farbstoff+Hyaluronidase-Quaddel einen Hinweis dafür, daß eine statistisch schwach gesicherte Veränderung in der Diffusionsgeschwindigkeit dieses Quaddel-Typus vorliegt. Die Größe der Schätzwerte $\bar{x}_t - \bar{x}_v$ für diese Veränderungen zeigt, daß es sich auch hier um eine Hemmung der Hyaluronidaseaktivität handelt. Sie ist jedoch wesentlich kleiner als diejenige, die bei alleiniger Anwendung von Resochin auftritt. Außerdem liegt, im Gegensatz zu Anwendung von Resochin allein, nur eine schwache statistische Sicherung dafür vor, daß es sich bei dieser Veränderung um etwas anderes als einen zufälligen Effekt handelt. Der Bartlett-Test lieferte für diese Versuchsreihe das erwartete Ergebnis.

Versuchsreihe 6a:

Auch hier ergibt sich sowohl aus den Varianz-Analysen als auch aus dem Duncan-Test, daß sowohl die reine Farbstoff-Quaddel als auch die Farbstoff+Hyaluronidase-Quaddel während des Versuches eine Veränderung in ihren Diffusionsgeschwindigkeiten erfahren. Aus den Schätzwerten $\bar{x}_t - \bar{x}_v$ folgt, daß es sich hierbei um eine Verminderung handelt, d.h., daß speziell bei der Farbstoff+Hyaluronidase-Quaddel eine Hemmung der Hyaluronidaseaktivität eintritt. Vergleicht man die Schätzwerte $\bar{x}_t - \bar{x}_v$ für die Farbstoff+Hyaluronidase-Quaddel dieser Versuchsreihe mit den entsprechenden Schätzwerten der Versuchsreihe 1, so zeigt sich, daß offensichtlich durch die zusätzliche Applikation von Avil eine Verminderung der hyaluronidasehemmenden Aktivität des Resochin bewirkt wurde. Außerdem ist bemerkenswert, daß bei Applikation von Avil die maximale Hemmung bereits 30' p.i. von Resochin auftritt, während bei der Applikation von Resochin allein die Hemmung 50' p.i. größer ist als 30' p.i. Daß es sich hierbei nicht um zufällige Effekte handelt, ergibt sich daraus, daß bei beiden Versuchsreihen die Unterschiede zwischen den Schätzwerten $\bar{x}_t - \bar{x}_v$, die zu den Zeitpunkten

30' p.i. und 50' p.i. gehören, statistisch hoch gesichert sind. Der Bartlett-Test liefert bei dieser Versuchsreihe das erwartete Ergebnis.

Versuchsreihe 6b:

Bei dieser Versuchsreihe erfährt die reine Farbstoff-Quaddel praktisch keine Veränderung in ihrer Diffusionsgeschwindigkeit (s. Varianz-Analyse). Bei der Farbstoff+Hyaluronidase-Quaddel liegt dagegen eine statistisch gesicherte Veränderung vor, bei der es sich um eine Hemmung der Hyaluronidaseaktivität handelt, wie sich aus der Größe der Schätzwerte $\bar{x}_t - \bar{x}_v$ für diese Veränderungen ergibt. Gegenüber der vorangegangenen Versuchsreihe unterscheidet sich das Ergebnis dieser Versuchsreihe dadurch, daß die Hemmung 50' p.i. wesentlich größer ist. Offensichtlich ist durch die frühere Applikation des Avils zu diesem Zeitpunkt die blockierende Wirkung nicht mehr so groß wie bei der vorangegangenen Versuchsreihe. Gegenüber der Hyaluronidasehemmung des reinen Mesochin ist auch bei dieser Form der Applikation von Avil die Hyaluronidasehemmung wesentlich verringert. Der Bartlett-Test liefert bei dieser Versuchsreihe gleichfalls das erwartete Ergebnis.

Abschließend ist noch auf die Rest-Varianz hinzuweisen, die bei allen Versuchsreihen relativ kleine Werte besitzt. Dieses kann einmal als Zeichen dafür gewertet werden, daß das von uns gewählte statistische Modell dem realen Sachverhalt gut entspricht, andererseits aber auch als Hinweis dafür, daß der Fehler der gewählten experimentellen Methode nicht sehr groß ist. Es konnte gezeigt werden, daß bei den vorliegenden Versuchsreihen die Rest-Varianz in keinem Fall größer ist, als sie auf Grund des reinen experimentellen Fehlers zu erwarten ist. Die Größe dieses experimentellen Fehlers wurde aus den Ergebnissen von Untersuchungen geschätzt, die ausschließlich der Bestimmung dieses Fehlers dienten.

Diskussion

Zunächst konnte die von F u m y ¹⁰ beschriebene Wirkung der hyaluronidasehemmenden Wirkung des Resochins bestätigt werden (Versuchsreihe 1). Bereits 30 und 50 Minuten nach subcutaner Resochin-Applikation von 10 mg/100 g Tier tritt eine statistisch signifikante Hemmung der Hyaluronidaseaktivität auf, die bei 70 Minuten p.i. geringer wird, um 90 Minuten p.i. wieder auf höhere Werte anzusteigen. Der weitere Verlauf wurde nicht beobachtet, da er für die für diese Arbeit zugrundeliegende Fragestellung nicht von Bedeutung ist. Die Versuchszeiten 30 und 50 Minuten p.i. wurden den weiteren Versuchen an adrenaletomierten Tieren bzw. nach Gabe blockierender Substanzen zugrunde gelegt. Die Ergebnisse der Versuchsreihe 2 zeigen, daß bei adrenaletomierten Tieren 50 Minuten p.i. im Gegensatz zu den bei M a t h i e s und Mitarbeitern geprüften anderen hyaluronidasehemmenden Substanzen ¹ die Hemmung der hyaluronidasehemmenden Aktivität erhalten bleibt. Die Tatsache, daß 30 Minuten nach Resochin-Applikation bei adrenaletomierten Tieren im Gegensatz zu intakten Ratten keine Hyaluronidasehemmung sichtbar ist, kann nicht eindeutig geklärt werden. Es ist zu diskutieren, ob ein zweiter Wirkungsmechanismus des Resochins, der nicht über das Nebennierenmark läuft, erst später deutlich wird, während ein möglicher über das Nebennierenmark laufender hyaluronidasehemmender Effekt eben bei 30 Minuten p.i. blockiert wird. Außerdem läßt sich allgemein bei adrenaletomierten Tieren feststellen, daß ihre verschiedenartig gelagerten Reaktionen anderen zeitlichen Abläufen unterliegen. Allerdings haben alle untersuchten Tiere dieser Versuchsreihe ein gleichmäßiges Verhalten hinsichtlich des Ausbleibens der hyaluronidasehemmenden Wirkung 30 Minuten nach Resochin-Gabe gezeigt. Sicher ist, daß Resochin im Gegensatz zu Salicylaten, Phenylbutazon, Moorbädern usw. auch bei adrenaletomierten Tieren zu einer Hyaluronidasehemmung führt.

Dem gegenüber bleibt die Hyaluronidasehemmung des Resochins nach Gabe eines Ganglienblockers aus bzw. wird weitgehend reduziert. Dabei erschien es notwendig, daß das verwendete Pendiomid in der angewandten Dosierung von 5 mg/100 g pro dosi während der Versuchs-

dauer zweimal injiziert werden mußte, um eine hinreichende Wirkungs-
dauer zu erzielen. Diese Ergebnisse zeigen, daß der ganglienblockie-
rende Effekt nicht mit einer Ausschaltung des Nebennierenmarks gleich-
zusetzen ist. Wohl wird durch Ganglienblocker nach B e i n und
M e i e r ²⁰ die synaptische Übertragung von Nebennierennerven auf
die Markzellen hemmend beeinflußt, womit nach E i c h h o l t z ²¹
das Nebennierenmark durch Ganglioplegica blockiert wird. Vermutlich
spielen aber bei der hyaluronidasehemmenden Wirkung des Resochins
auch periphere Ganglien eine Rolle, oder die Ganglienblocker vermö-
gen an irgendeiner noch unbekannten Stelle den hyaluronidasehemmen-
den Effekt des Resochins zu unterbinden. Auch durch das Adrenolyticum
Ergotamin (Versuchsreihe 4) wird der hyaluronidasehemmende Effekt
des Resochins weitgehend blockiert, wobei ebenfalls eine zeitgerechte
Applikation des Ergotamins erforderlich war. Diese Ergebnisse bewe-
sen, besonders im Zusammenhang mit adrenaletomierten Tieren, nicht,
daß die hyaluronidasehemmende Wirkung des Resochins ausschließlich
an eine Katecholaminfreisetzung aus dem Nebennierenmark gebunden
ist. Nach B i r c h e r und S c h a l c h ²² besitzt Ergotamin
auch eine antihistaminergische Wirkung, die sich nach Versuchen von
M a t h i e s ¹⁶ auch darin ausdrückt, daß die hyaluronidasehemmen-
de Wirkung des Histamins durch Ergotamintartrat blockiert wird. Im
Zusammenhang mit den Versuchsergebnissen der Versuchsreihe 6, nach
denen die hyaluronidasehemmende Wirkung des Resochins durch das
Antihistaminicum Avil ebenfalls weitgehend reduziert wird, kann der
blockierende Einfluß des Ergotamintartrats ebenfalls in diesem Sinne
gedeutet werden. Schließlich ist nach den Ergebnissen der Versuchs-
reihe 5 die hyaluronidasehemmende Wirkung des Resochins durch das
heparininaktivierende Protaminsulfat aufzuheben. Es ist demnach wahr-
scheinlich, daß Resochin, wie es auch bei anderen hyaluronidasehem-
menden Substanzen der Fall ist, über eine Heparin-Histamin-Freisetzung
aus den Mastzellen hyaluronidasehemmend wirksam wird. Auffallend ist
dabei, daß dieser Effekt nicht ausschließlich über eine Katecholamin-
freisetzung aus dem Nebennierenmark zu wirken scheint. Der hier vor-
liegende Wirkungsmechanismus ist jedoch auf Grund der vorliegenden
Ergebnisse noch nicht restlos zu klären.

Zusammenfassung

Es wurde in Tierversuchen an weißen Ratten gezeigt, daß die hyaluronidasehemmende Wirkung des Chloroquins (Resochin) bei adrenalectomierten Tieren nicht wie bei anderen hyaluronidasehemmenden Substanzen ausbleibt. Im Zusammenhang mit den Ergebnissen anderer Autoren wird daher angenommen, daß der hyaluronidasehemmende Effekt des Resochins nicht an eine Aktivierung des Nebennierenmarks gebunden zu sein scheint wie dieses z.B. bei Salicylaten, Phenylbutazon und anderen hyaluronidasehemmenden Stoffen der Fall ist. Die Hyaluronidaschemmung durch Resochin wird durch einen Ganglienblocker, ein Adrenolyticum, eine heparininaktivierende Substanz und ein Antihistaminicum weitgehend aufgehoben. Ein Wirkungsmechanismus über eine Freisetzung von Heparin und Histamin aus den Mastzellen ohne Mitwirkung von Nebennierenmarkcatecholaminen wird diskutiert.

Literaturverzeichnis

- 1) Mathies, H.: Zschr. Rheumaforsch. 18, 205 (1959)
- 2) Mathies, H.: Med. Klin. 52, 1676 (1957)
- 3) Mathies, H.: Fortschr. Med. 74, 34 (1956)
- 4) Domenjoz, R.: Arch. exp. Path. Pharm. 225, 14 (1955)
- 5) Mathies, H.: 6. Int. Kongr. univ. Moorforsch. Juni 1958
- 6) Mathies, H.: Med. Mschr. 10, 684 (1958)
- 7) Mathies, H.: Zschr. Rheumaforsch. 18, 308 (1959)
- 8) Mathies, H. u. v. Werther, G.: Zschr. angew. Bäder-Klimahk. 5, 503 (1958)
- 9) Mathies, H. u. Gareissen, G.: Med. Klin. im Druck
- 10) Fumy, A.: Diss. München 1959
- 11) Page, F.: Lancet 261, 755 (1951)
- 12) Haydu: Amer. Journ. med. Science 255, 71 (1953)
- 13) Kurnick: cit. Bagnall, A.: Canad. M.A.J. 77, 182 (1957)
- 14) Busch, L.: Pharm. Wiss. Lit. Abt. Bayer-Leverkusen, Runschr.
10 W/A v. 101.1958 (Resochin)
- 15) Mathies, H.: Verh. Dtsch. Ges. Inn. Med. 64, 617 (1958)
- 16) Mathies, H.: Verh. Dtsch. Ges. Inn. Med. 65, 446 (1959)
- 17) Mathies, H. u. Schlierf, G.: in Vorbereitung
- 18) Wilhelmi, G.: cit. Domenjoz (4)
- 19) Karg, H.: persönliche Mitteilung
- 20) Bein, H. u. Maier, R.: Schweiz. med. Wschr. 81, 446 (1951)
- 21) Eichholtz, F.: Lehrb. Pharm. Springer-Verlag, Berlin-Göttingen-
Heidelberg, 1957, 80
- 22) Bircher, R. u. Schalch, W.R.: Helv. Physiol. 6, 813 (1948)

Ich danke Herrn Professor Dr. W. Seitz für die Überlassung des Themas und Herrn Dr. H. Mathies für die Anregung zu dieser Arbeit und die Unterstützung bei der Bearbeitung des Themas.

Herrn Dipl.-Math. K. Liebrich bin ich für die Durchführung der statistischen Berechnungen dankbar.

Die Versuchssubstanz (Resochin) wurde von den Farbenfabriken Bayer freundlicherweise zur Verfügung gestellt.

Am 21.11.1934 wurde ich in Eschwege /Hessen geboren. Nach vierjährigem Besuch der Volksschule trat ich in das Realgymnasium in Eschwege ein. Dort blieb ich bis zum Abitur im Jahre 1955. Mein medizinisches Studium begann in Frankfurt am Main, wo ich zwei Semester studierte. Nach drei weiteren schloß ich dann in Marburg an der Lahn mein vor-klinisches Studium mit dem ärztlichen Vorexamen ab. Das erste klinische Semester studierte ich noch in Marburg, ging dann aber für ein Jahr an die Universität in Wien. Im Sommersemester 1959 immatrikulierte ich mich an der Ludwig-Maximilians-Universität in München, wo ich mich dann auch mit der Bearbeitung meines Promotionsthemas beschäftigte.

